



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

## **MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

2011/2012

André Silva de Carvalho

Lúpus Eritematoso Sistémico: implicações das  
hormonas sexuais na sua patogénese e prognóstico

março, 2012

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

André Silva de Carvalho

Lúpus Eritematoso Sistémico: implicações das  
hormonas sexuais na sua patogénese e prognóstico

**Mestrado Integrado em Medicina**

**Área: Reumatologia**

**Trabalho efetuado sob a Orientação de:**

**Dr.<sup>a</sup> Iva Brito**

**Trabalho organizado segundo as normas de publicação da revista:**

**Arquivos de Medicina**

março, 2012

FMUP

Eu, André Silva de Carvalho, abaixo assinado, nº mecanográfico 060801194, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 20/03/2012

Assinatura: \_\_\_\_\_

*André Silva de Carvalho*

**Nome:** André Silva de Carvalho

**Endereço eletrónico:** med06194@med.up.pt **Telefone ou Telemóvel:** +351917969435

**Número do Bilhete de Identidade:** 13177436

**Título da ~~Dissertação~~/Monografia** (cortar o que não interessa):

Lúpus Eritematoso Sistémico: implicações das hormonas sexuais na sua patogénese e prognóstico

**Orientador:**

Iva Humberta Oliveira de Brito

**Ano de conclusão:** 2012

**Designação da área do projeto:**

Reumatologia

É autorizada a reprodução integral desta ~~Dissertação~~/Monografia (cortar o que não interessar) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projetos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 20/03/2012

Assinatura: \_\_\_\_\_

*André Silva de Carvalho*

# **Lúpus Eritematoso Sistémico: implicações das hormonas sexuais na sua patogénese e prognóstico**

## **Systemic Lupus Erythematosus: the role of sex hormones in its pathogenesis and prognosis**

Carvalho, André Silva\*

\* Aluno do 6.º ano do Mestrado Integrado em Medicina da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

### **Correspondência**

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Alameda do Prof. Hernâni Monteiro. 4200-319 Porto, PORTUGAL

Telefone: +351225513600

Fax: +351225513601

E-mail: med06194@med.up.pt

### **Agradecimentos**

À Dr.<sup>a</sup> Iva Brito, cuja orientação e disponibilidade foram indispensáveis à realização desta monografia.

### **Contagem de palavras**

**Resumo:** 183 palavras

**Abstract:** 189 words

**Texto:** 3538 palavras

## **Resumo**

O lúpus eritematoso sistémico (LES) é uma doença inflamatória crónica, multissistémica e autoimune que atinge maioritariamente mulheres em idade reprodutiva, com um rácio sexo feminino/sexo masculino globalmente estimado em 9:1. A sua etiologia ainda não está totalmente esclarecida, apesar de avanços recentes na sua compreensão.

Nesta doença, virtualmente todos os componentes do sistema imunitário parecem estar envolvidos nos mecanismos subjacentes à indução, manutenção e progressão da mesma. Tem sido sugerido que as hormonas sexuais, em especial os estrogénios, desempenham um papel importante na sua patogénese. De facto, as hormonas esteroides sexuais são potentes reguladores da função imune, nomeadamente a nível da produção de citocinas e no balanço entre respostas Th1/Th2. Além do seu papel potencial na patogénese do lúpus, as hormonas sexuais são também, hoje em dia, investigadas como possíveis alvos terapêuticos nesta doença.

Nesta monografia pretende-se efetuar uma revisão da literatura no sentido de um maior esclarecimento sobre o eventual papel das hormonas esteroides sexuais nas alterações imunológicas encontradas no LES, assim como dos principais mecanismos propostos para o viés de género associado a esta doença e às implicações terapêuticas daí decorrentes.

**Palavras-chave:** lúpus eritematoso sistémico; hormonas esteroides sexuais; patogénese

## **Abstract**

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic, inflammatory, multisystemic autoimmune disease that mainly affects women in reproductive age, with a female-to-male ratio globally estimated at 9:1. Despite recent advances in its understanding, its etiology is not yet fully understood.

In this disease, virtually all components of the immune system seem to be involved in the mechanisms underlying its induction, maintenance and progression. It has been suggested that sex hormones, especially estrogens, may have an important role in its pathogenesis. In fact, gonadal steroid hormones are potent regulators of the immune function, particularly because of their ability to modulate cytokine production and alter the balance between Th1 and Th2 immune responses. In addition to their potential role in the pathogenesis of lupus, sex hormones are also now under investigation as potential therapeutic targets for this disease.

In this article, is intended to conduct a systematic review of literature regarding a better understanding on the possible role of sex hormones in the immune aberrations found in SLE, as well as to review the main mechanisms proposed for the gender bias associated with this disease and the therapeutic implications arising from them.

**Key-words:** systemic lupus erythematosus; gonadal steroid hormones; pathogenesis

## Índice

Lista de abreviaturas	5
Lista de tabelas	5
Introdução	6
Material e métodos	7
Lúpus Eritematoso Sistémico: definição	8
Epidemiologia	8
Patogénese	9
Imunidade inata	9
Imunidade adquirida	10
Autoanticorpos	11
Hormonas Sexuais na patogénese e prognóstico do LES	12
Estrogénio	12
Progesterona	16
Androgénios	16
Conclusão	18
Referências	20
Anexo	25



## **Lista de abreviaturas**

**LES** - lúpus eritematoso sistémico

**ACR** - *American College of Rheumatology*

**TLR** - *Toll-like receptors*

**IFN** - interferão

**IL** - interleucina

**BLyS** - *B lymphocyte stimulator*

**antidsDNA** - anticorpos anticadeia dupla de ADN

**RE** - recetor do estrogénio

**RE- $\alpha$**  - recetor do estrogénio do tipo alfa

**RE- $\beta$**  - recetor do estrogénio do tipo beta

**E<sub>2</sub>** - estradiol

**NZB/NZW** - *New Zealand Black/New Zealand White*

**IgG** - Imunoglobulina G

**ACO** - anticoncepcionais orais

**DHEA** - dihidroepiandrosterona

## **Lista de tabelas**

**Tabela 1:** Critérios de diagnóstico de LES segundo o ACR, modificados em 1997

## **Introdução**

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença autoimune sistêmica com manifestações clínicas diversas e uma predileção marcada pelo sexo feminino. Ao longo dos últimos anos, vários têm sido os estudos no sentido de uma melhor compreensão da sua etiopatogenia.

Atualmente, aceita-se unanimemente que é uma doença multifatorial, na qual a suscetibilidade genética, a idade e fatores hormonais e ambientais interatuam de forma complexa (1).

A marcada predominância no sexo feminino existe por razões ainda não totalmente esclarecidas. Existem diferenças significativas entre os sistemas imunitários do homem e da mulher, que não parecem explicadas por outro mecanismo que não os diferentes níveis de esteroides sexuais (2). No entanto, não se conseguiu provar com consistência que este mecanismo seja responsável por todo o viés de gênero desta doença. É possível que, entre outros, polimorfismos genéticos ligados aos cromossomos sexuais possam ter também um papel importante (3).

Neste trabalho pretende-se efetuar uma revisão da literatura no sentido de um maior esclarecimento sobre o eventual papel das hormonas esteroides sexuais nas alterações imunológicas encontradas no LES, assim como dos principais mecanismos propostos para o viés de gênero associado a esta doença e às implicações terapêuticas daí decorrentes.

## **Material e métodos**

Esta revisão foi efetuada após pesquisa de artigos científicos na base de dados PubMed, utilizando a seguinte *query*: ("Lupus Erythematosus, Systemic"[Majr]) AND "Gonadal Steroid Hormones"[MeSH]. Apenas foram considerados os artigos escritos na língua inglesa ou portuguesa, publicados no período compreendido entre 1 de janeiro de 2007 e 30 de setembro de 2011 em revistas de elevado impacto. Após obtenção de 28 artigos em texto integral foram ainda analisadas as referências bibliográficas consideradas relevantes.

## **Lúpus Eritematoso Sistêmico: definição**

O LES é uma doença multissistêmica com marcada predominância no sexo feminino, subsequente em grande medida a uma resposta imune contra autoantígenos ubiquitários, maioritariamente intranucleares (4). Apesar do progresso que se tem verificado recentemente no conhecimento da patogênese do LES, a sua etiologia continua em grande parte por esclarecer. No entanto, é universalmente aceite que esta é multifatorial, resultando da interação entre fatores genéticos, ambientais e hormonais (1, 4, 5). O LES é uma das doenças autoimunes mais pleomórficas, podendo as suas manifestações clínicas variar desde *rash* cutâneo, artrite, anemia ou trombocitopenia até outras como nefrite e atingimento do Sistema Nervoso Central, que implicam maior morbilidade e pior prognóstico vital (1, 6). O seu diagnóstico baseia-se na conjugação de critérios clínicos e laboratoriais propostos em 1982 e revistos em 1997 pelo *American College of Rheumatology* (ACR) (Tabela 1), sendo necessária a presença de quatro ou mais destes critérios, seriada ou simultaneamente, durante um determinado intervalo de observação (1).

## **Epidemiologia**

Considerada uma doença rara, é hoje evidente que o LES é relativamente comum em certos grupos populacionais (7). Pode ser diagnosticado em qualquer idade, apesar de na grande maioria dos doentes se manifestar entre os 15 e os 40 anos (1, 7). O LES é substancialmente mais frequente em mulheres em idade reprodutiva, com um rácio sexo feminino/sexo masculino globalmente estimado em 9:1, o que sugere para a maioria dos autores uma possível relação de causalidade entre as hormonas sexuais e o desenvolvimento da doença (1, 7, 8). Estudos sobre tendência racial mostraram que o LES afeta mais frequentemente não-caucasianos, tendo consistentemente maior incidência e prevalência em indivíduos de raça negra (6, 8). As taxas de concordância entre gémeos monozigóticos e dizigóticos são de 24% e 2%, respetivamente (1). Relativamente ao

prognóstico, pode afirmar-se que nos últimos 40 anos se assistiu a uma melhoria substancial nas taxas de sobrevivência, que era inferior a 50% aos 5 anos na década de 50 e que se estima atualmente ser de 93% e 85% aos 5 e 10 anos, respetivamente, resultante de uma maior acuidade diagnóstica e estratégia terapêutica (1, 6, 7).

## **Patogénese**

O LES pode ser considerado o protótipo de doença sistémica, na medida em que virtualmente todos os componentes do sistema imunitário (quer a nível de imunidade inata quer da adquirida) parecem estar envolvidos nos mecanismos subjacentes à indução, manutenção e progressão da doença (5, 9).

### **Imunidade inata**

Está hoje demonstrado que a imunidade inata desempenha um papel fundamental na patogénese da doença (5). Um dos mecanismos propostos para o desenvolvimento de autoimunidade no LES baseia-se no conceito de que a capacidade de remoção de detritos celulares apoptóticos levada a cabo pelos monócitos e macrófagos está diminuída (4, 6, 9). O fator C1q da via clássica do complemento tem também um papel preponderante na fagocitose por se ligar aos remanescentes apoptóticos e permitir a sua destruição após interação com os recetores de superfície presentes nos macrófagos (6). Manifestações clínicas severas do LES são encontradas frequentemente em doentes com deficiência homozigótica deste fator, que é, aliás, uma condição genética rara que demonstrou forte associação com a ocorrência da doença (5, 6, 9). Além disso, o defeito no *clearance* de material apoptótico levado a cabo pelo sistema do complemento parece ter implicações no acelerar do processo aterosclerótico dos doentes com LES (8). Alguns estudos têm também realçado a importância dos *Toll-like receptors* (TLR) na ativação de células dendríticas e de linfócitos B. A ativação da via pró-inflamatória do interferão- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) tem sido associada

com a presença de autoanticorpos específicos para ribonucleoproteínas que parecem ser reconhecidas pelos TLR-9 e 7 (10).

### **Imunidade adquirida**

Várias alterações na imunidade humoral e celular têm sido descritas na etiopatogénese do LES. Os linfócitos T estimulam excessivamente as células B ao produzirem quantidades deficientes de interleucina (IL)-2. Os níveis de IL-17 estão anormalmente elevados no soro dos doentes com LES e acredita-se que sejam produzidos por uma fração também aumentada de linfócitos T duplamente negativos ( $CD4^- CD8^-$ ) que, em pessoas saudáveis, constituem uma população rara de linfócitos ( $< 5\%$ ). A IL-17 contribui para a formação de centros germinativos nos gânglios linfáticos onde atua em conjunto com um fator ativador de células B levando à produção de autoanticorpos por linfócitos B autorreativos (4, 5). É também consensual que as células T reguladoras se encontram diminuídas e têm uma capacidade reduzida em suprimir a proliferação de células T *helper* nos doentes com LES (5, 6). A linfopenia de células B e a sua hiperatividade são achados relevantes encontrados no LES (4). Os linfócitos B autorreativos surgem precocemente na ontogenia B e acredita-se que a perda de tolerância ocorra por defeitos em vários *checkpoints* desta via (4, 9). O estimulador de linfócitos B (BLyS, *B lymphocyte stimulator*) é uma molécula pertencente à superfamília do TNF-ligando que promove a proliferação e diferenciação das células B cujos níveis estão aumentados em várias doenças autoimunes como a artrite reumatoide, síndrome de Sjögren e LES (6, 10). Níveis séricos elevados do BLyS têm uma correlação positiva com o título de anticorpos anticadeia dupla de ADN (anti-dsDNA) (6). Além do papel que as células B e T têm na formação de autoanticorpos, o facto de produzirem um perfil de citocinas que modulam a resposta inflamatória no sentido de promover lesão tecidual não pode ser negligenciado na etiopatogenia do LES (10).

## **Autoanticorpos**

Os autoanticorpos são a causa primordial de dano tecidual nos doentes com LES (6) e podem ser detetados no soro dos doentes até 5 anos antes do aparecimento das primeiras manifestações clínicas (10). Apesar de os autoanticorpos produzidos nesta doença poderem ser dirigidos contra múltiplos constituintes dos tecidos, apenas um pequeno número mostrou até hoje contribuir de forma inequívoca para lesão de órgão-alvo no LES (4). Destes, os melhor estudados e caracterizados são os anticorpos anti-DNA, que têm uma elevada especificidade no LES (estão presentes em mais de 70% dos casos, mas em menos de 0,5% dos indivíduos saudáveis ou com outras doenças autoimunes) (6). Os níveis plasmáticos tendem a correlacionar-se com a atividade da doença, com o desenvolvimento de nefrite e de manifestações neurológicas, estas através de um mecanismo de reatividade cruzada com o recetor N-metil-D-aspartato presente no hipocampo (4, 6, 9, 10). Do mesmo modo, a presença de anticorpos anti-SSA/Ro e anti-SSB/La relaciona-se com o desenvolvimento de bloqueio auriculoventricular no feto, quando presentes na grávida com LES (6). Aos anticorpos antinucleossomas e anti-SSA/Ro têm sido atribuídos papéis importantes no desenvolvimento de lesões cutâneas (6). Os autoanticorpos parecem também causar dano tecidual na presença de fatores locais adicionais, como por exemplo a presença concomitante de anticorpos antifosfolípidos induzir eventos trombóticos sobretudo quando coexistem fatores favorecedores como estase venosa, infeção ou hipertensão arterial (5).

Em suma, o sistema imunológico do doente com LES é um sistema comprometido na sua globalidade em que a desregulação de um dos seus elementos acaba, em última análise, por levar à sua falha na totalidade (4).

## **Hormonas Sexuais na patogénese e prognóstico do LES**

O elevado rácio sexo feminino/masculino do LES pode, em parte, ser devido aos efeitos dos estrogénios e androgénios. As hormonas sexuais têm implicações a nível da imunidade inata e adquirida, exercendo os seus efeitos através da ligação aos respetivos recetores presentes nas células do sistema imunológico (11, 12). Recetores dos estrogénios (RE) RE- $\alpha$  e RE- $\beta$  estão presentes em linfócitos T citotóxicos, T *helper* e linfócitos B (11, 13, 14). Recetores da testosterona e da prolactina foram também isolados em células B e T (11).

### **Estrogénio**

O estrogénio tem uma ação pleiotrópica no sistema imunitário (3) e são várias as evidências que parecem suportar o seu papel na patogénese do LES, como o facto de ter maior incidência em mulheres em idade reprodutiva, no período pubertário e de muitas doentes apresentarem exacerbações durante a gravidez, períodos de elevação dos níveis circulantes de estrogénio (3, 15).

O controlo deficiente da apoptose das células T é um dos mecanismos patogénicos no LES. O estradiol ( $E_2$ ) é capaz de inibir a apoptose de linfócitos T de doentes com LES de forma dose-dependente, ocorrendo por regulação negativa da expressão do ligando Fas a nível quer do ARN mensageiro (ARNm) quer de produção de proteína. Estes efeitos são revertidos pela administração prévia de tamoxifeno (modulador do RE), indicando que o estrogénio exerce estes efeitos através do seu recetor (16). O  $E_2$  aumenta a expressão de calcineurina em linfócitos T periféricos de doentes com LES (17). Foi também demonstrado que o  $E_2$  influencia seletivamente as vias de transdução de sinal das células T no LES (18). O IFN- $\alpha$  é uma molécula com a capacidade de ativar células apresentadoras de antígeno que tenham fagocitado material do próprio e, como tal, tem sido implicada no desenvolvimento de tolerância imunológica (19). Verificou-se que a via do IFN- $\alpha$  e a expressão de PI3K/Akt (*phosphoinositide 3-kinase/Akt*) são reguladas positivamente pelo  $E_2$



em células provenientes de doentes com LES, mas não em controlos. Da mesma forma, a sinalização através do TCR (*T cell recetor*), GM-CSF (*granulocyte macrophage colony stimulating fator*), cálcio e SAPK/JNK (*Stress-activated protein kinase/c-Jun NH2-terminal kinase*), vias associadas à regulação da função dos linfócitos T e que comprovadamente estão alteradas no LES, é também amplificada pelo E<sub>2</sub> (18).

Um estudo sobre a expressão do RE em células mononucleadas de sangue periférico de doentes com LES mostrou que a expressão do ARNm de RE- $\alpha$ , mas não de RE- $\beta$ , é significativamente maior neste grupo, quando comparada com células de controlos (14). Foi também demonstrado que as células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> de doentes com LES têm uma maior densidade de RE- $\alpha$ , enquanto que a expressão de ARNm do RE nos linfócitos B se encontra diminuída, o que levou os autores a proporem que esta sobre expressão de RE- $\alpha$  seja responsável pela influência do estrogénio nas células T CD4<sup>+</sup> dos doentes com lúpus (14).

Outro estudo demonstrou que também a nível proteico, a expressão de RE- $\alpha$  está aumentada no LES (17). A administração de E<sub>2</sub>, bem como de um agonista altamente seletivo do RE- $\alpha$  [propil-pirazol-triol (PPT)] em ratinhos *New Zealand Black/New Zealand White* (NZB/NZW) previamente ooforectomizados levou a um aumento significativo da concentração de imunoglobulina G (IgG) total, IgG anti-ADN, desenvolvimento mais acelerado de albuminúria e diminuição da sobrevivência quando comparado com a administração de placebo. Neste estudo, a administração de PPT potenciou significativamente a produção de IgG2a, IgG2b e IgG3, subclasses de imunoglobulinas reconhecidamente mais patogénicas em modelos murinos de LES pelo seu papel na opsonização e na fixação do complemento. Pelo contrário, a administração de um agonista seletivo do recetor RE- $\beta$  suprimiu a produção de IgG2 anti-ADN e não teve efeito acelerador de proteinúria nem de mortalidade (13). Estes dados permitem postular que, em modelos murinos de LES, a ativação do RE- $\alpha$  tem um efeito estimulador da resposta autoimunitária, enquanto que a ativação do RE- $\beta$  parece ter um ligeiro efeito imunossupressor (13, 20). A

administração de E<sub>2</sub> a ratinhos NZB/NZW modula a capacidade das células dendríticas a nível da apresentação de antígenos, estimulação de células T e produção de citocinas e esta modulação varia com a progressão da doença. Antes do desenvolvimento de doença, o E<sub>2</sub> potencia a expressão de CD40 por células dendríticas do baço, levando à estimulação excessiva das células T. Pelo contrário, após o estabelecimento de doença, as células dendríticas induzem a sua apoptose sob a influência do estrogénio. Estes efeitos são atingidos por estimulação do RE- $\alpha$  (21). *In vivo*, a administração de estrogénio leva ao aumento da expressão do gene *Ifi202* principalmente em linfócitos B (mas também em células T). Aumentos da expressão da proteína codificada por este gene (p202) estão associados com defeitos na apoptose das células B e com um aumento de suscetibilidade para o desenvolvimento de doenças *lupus-like* (22).

Também os linfócitos B estão funcionalmente alterados no LES, sendo responsáveis pela produção de um conjunto de autoanticorpos potencialmente nocivos (5). Um estudo experimental em ratinhos NZB/NZW ooforectomizados tratados com estradiol/raloxifeno demonstrou que os níveis de anticorpos antidsDNA e, interessantemente, das suas subclasses IgG2a e IgG3 são significativamente mais baixos do que quando tratados com placebo ou E<sub>2</sub> isoladamente. Neste estudo (23), o raloxifeno (modulador seletivo dos RE) foi ainda responsável por uma melhoria na lesão renal e na proteinúria induzida pelo E<sub>2</sub>. Além disso, antagonizou os efeitos do estrogénio no desenvolvimento e ativação de linfócitos B autorreativos. Estes efeitos são em parte mediados por uma redução na expressão de CD40 pelas células B foliculares, tornando-as menos reativas à coestimulação por linfócitos T.

Há evidências sugestivas de que o metabolismo dos estrogénios está alterado nos doentes com LES (3, 20) e que estas alterações favorecem a produção de metabolitos com elevada potência estrogénica (sobretudo por 16-hidroxilação) (11, 12). Níveis cerca de 20 vezes superiores destes metabolitos foram encontrados em doentes com lúpus (24, 25). Estas vias são responsáveis pela formação de metabolitos intermediários que funcionam como

haptenos capazes de formar ligações covalentes com o ADN, induzindo a sua modificação (24). Demonstrou-se que autoanticorpos de doentes com LES têm maior afinidade de ligação ao ADN modificado por catecolestrogénios do que ao ADN nativo (25). É possível que a modificação das bases do ADN pelos metabolitos do E<sub>2</sub> contribua para a patogénese do LES por potenciar a formação de autoanticorpos (24, 25).

O papel dos anticoncecionais orais (ACO) como fatores despoletantes da doença tem sido alvo de vários estudos. Num grande estudo no Reino Unido (26), o risco relativo (RR) de desenvolver LES associado com o uso de ACO foi de 1,19, significativamente superior nos 3 primeiros meses e com doses mais elevadas (50 µg) de etinilestradiol (RR 2,92), sugerindo um efeito agudo e dependente da dose em mulheres com suscetibilidade de desenvolver a doença. Contudo, outros ensaios clínicos randomizados não mostraram associação entre o uso de ACO e exacerbações graves da doença em doentes com LES inativo ou estável (3, 27). O mesmo parece ser verdadeiro para a terapêutica hormonal de substituição em mulheres na pós-menopausa (3, 15).

Além dos estrogénios naturais, também xenoestrogénios derivados de plantas, detergentes, pesticidas ou inseticidas têm sido implicados na etiopatogenia do LES (3, 28). Vários estudos em humanos demonstraram que a imunotoxicidade de alguns pesticidas determina um aumento na produção de anticorpos, inibição da produção de IL-2, alteração da função macrófagica, diminuição da proliferação dos linfócitos T e inibição da atividade das células *natural killer*, bem como aumento da sensibilidade a antibióticos e aumento da frequência de autoanticorpos (28). Em ratinhos NZB/NZW intactos, a exposição crónica ao DDT (O-p'-diclorodifeniltricloroetano) não teve impacto na atividade da doença lúpica (apesar de um aumento ligeiro na incidência de albuminúria), enquanto que a administração de TCCD (2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina) teve um claro efeito imunossupressor, com diminuição da incidência de proteinúria, da mortalidade e supressão significativa da produção de anticorpos anti-ADN (29). A exposição a pesticidas pode ser considerada um fator

predisponente da doença em indivíduos suscetíveis, mas o seu papel como fator causal parece ser pouco importante, na medida em que os seus efeitos *in vivo* variam de composto para composto, atuando individualmente em cada tecido (28, 29).

### **Progesterona**

A progesterona é um potente imunomodulador, muitas vezes descrita como tendo efeitos contrários aos do estrogénio em termos de indução de inflamação e de autoimunidade (20, 30). Esta hormona promove uma polarização no sentido de uma resposta Th2 ao estimular a produção de IL-4, IL-5 e IL-10 (20). A consubstanciar este efeito antagonista da progesterona, um estudo em ratinhos NZB/NZW intactos demonstrou que a administração de acetato de medroxiprogesterona em depósito (DMPA) previne a sua morte por atenuar a glomerulonefrite espontânea nestes animais (30). O tratamento com DMPA reduziu a acumulação das subclasses de imunoglobulinas nefritogénicas IgG2a e IgG3 a nível glomerular. Além destes efeitos, a progesterona parece ter um efeito anti-inflamatório extraglomerular, nomeadamente por reduzir significativamente a inflamação pericapilar a nível renal (30).

### **Androgénios**

Em homens com lúpus têm sido reportados consistentemente níveis séricos baixos de testosterona (3, 20) e os androgénios têm ganho cada vez mais preponderância como tendo um efeito protetor no desenvolvimento do LES (15). Apesar da aplicação de adesivos transdérmicos contendo 150 µg de testosterona não ter mostrado melhorias significativas quer na atividade da doença quer na qualidade de vida quando comparada com o placebo, o fracasso deste ensaio clínico pode ser explicado pela baixa dose de testosterona utilizada (31). A par da testosterona, a dihidroepiandrosterona (DHEA) é um precursor quer dos estrogénios quer dos androgénios, capaz de despoletar respostas imunoestimuladoras *in vivo*, muitas vezes contrapondo os efeitos imunossupressores dos glicocorticóides (32, 33).

A DHEA é um potente estimulador da libertação de IL-2 de linfócitos T *helper* e regula negativamente a produção de citocinas Th2 como a IL-6 e IL-10 (20, 32). O tratamento de linfócitos T CD4<sup>+</sup> com DHEA *in vitro* restaura a sua capacidade de secretar IL-2 em quantidades fisiológicas (33). O efeito da DHEA na atividade do LES tem sido intensamente estudado. Num estudo em 13 doentes do sexo feminino, a administração de 200 mg de DHEA não apresentou diferenças a nível de atividade da doença, níveis de complemento, anticorpos anti-DNA e concentrações séricas de marcadores de função endotelial quando comparada com a administração de placebo (34). Foi interessante verificar, nesse mesmo estudo, que os níveis de colesterol HDL decresceram significativamente no grupo tratado com DHEA. Num outro ensaio clínico em 60 doentes do sexo feminino com LES quiescente, a fadiga e o bem-estar geral melhoraram quer com a administração de 200 mg de DHEA quer de placebo (35). Apesar da existência de relatos de sucesso da DHEA em reduzir as manifestações clínicas do LES (3, 32, 33), ainda não foram reportados efeitos consistentes desta hormona na regulação da função imune.

Foi recentemente demonstrado que um polimorfismo no gene da globulina transportadora das hormonas sexuais se associa positivamente com a incidência de LES. Este polimorfismo é responsável por níveis séricos significativamente mais baixos de testosterona, mas não de E<sub>2</sub> (36). No entanto, não se observou associação entre a ocorrência deste polimorfismo e manifestações clínicas do LES.

## Conclusão

As doenças autoimunes têm na sua etiologia componentes maioritariamente genéticos, endócrinos e ambientais. O facto de ocorrerem com maior prevalência no sexo feminino dever-se-á, em grande parte, ao papel dos estrogénios. No LES, em particular, este viés é particularmente elevado, indiciando que fatores ligados ao sexo possam ser fundamentais na patogénese e desenvolvimento da doença. Estas observações fazem com que a influência das hormonas sexuais na patogénese e prognóstico do LES sejam alvos pertinentes no âmbito investigacional.

Contudo, apesar dos mecanismos imunológicos subjacentes ao desenvolvimento e progressão da doença estarem hoje muito melhor elucidados, a investigação existente relativa à influência dos estrogénios e androgénios na sua etiopatogénese é ainda escassa. Além disso, um modelo baseado somente na diferença hormonal existente entre os dois sexos não permite, por si só, explicar o facto da doença ocorrer também no sexo masculino, na maioria das vezes de forma mais agressiva e comportando um pior prognóstico vital. De facto, outros fatores ligados ao sexo, que não as hormonas sexuais, podem também ser importantes na patogenia da doença. Destes, destacam-se os mecanismos de inativação do cromossoma X, a placenta e a sua capacidade de produzir IFN- $\alpha$ , fenómenos epigenéticos e ambientais.

Em conclusão, os estrogénios e androgénios são potentes reguladores da função imune, nomeadamente a nível da produção de citocinas e no balanço entre respostas Th1/Th2 tendo implicações não só como agentes etiológicos e modificadores da atividade do LES, mas também como possíveis alvos terapêuticos nesta doença. No entanto, parecem ter apenas um papel secundário num processo complexo e multifatorial, que provavelmente será iniciado por outros fatores. Será necessária investigação adicional, não só a nível

molecular e clínico, como através do desenvolvimento e utilização de fármacos direcionados que permitam, de forma assertiva, clarificar o papel das hormonas sexuais no LES.

## Referências

- (1) O'Neill S, Cervera R. Systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2010;24(6): 841-855
- (2) Lahita RG. Emerging concepts for sexual predilection in the disease systemic lupus erythematosus. *Ann N Y Acad Sci* 1999;876: 64-69; discussion 69-70
- (3) Petri M. Sex hormones and systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2008;17(5): 412-415
- (4) Crispin JC, Liossis SN, Kis-Toth K, Lieberman LA, Kyttaris VC, Juang YT et al. Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: recent advances. *Trends Mol Med* 2010;16(2): 47-57
- (5) Gualtierotti R, Biggioggero M, Penatti AE, Meroni PL. Updating on the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2010;10(1): 3-7
- (6) Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2008;358(9): 929-939
- (7) Jimenez S, Cervera R, Font J, Ingelmo M. The epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Clin Rev Allergy Immunol* 2003;25(1): 3-12
- (8) Danchenko N, Satia JA, Anthony MS. Epidemiology of systemic lupus erythematosus: a comparison of worldwide disease burden. *Lupus* 2006;15(5): 308-318
- (9) Muñoz LE, Janko C, Schulze C, Schorn C, Sarter K, Schett G, et al. Autoimmunity and chronic inflammation - two clearance-related steps in the etiopathogenesis of SLE. *Autoimmun Rev* 2010;10(1): 38-42
- (10) Crow MK. Developments in the clinical understanding of lupus. *Arthritis Res Ther* 2009;11(5): 245



- (11) González DA, Díaz BB, Pérez M, Hernández AG, Chico B, León AC. Sex hormones and autoimmunity. *Immunol Lett* 2010;133(1): 6-13
- (12) Yacoub Wasef SZ. Gender differences in systemic lupus erythematosus. *Gend Med* 2004;1(1): 12-17
- (13) Li J, McMurray RW. Effects of estrogen receptor subtype-selective agonists on autoimmune disease in lupus-prone NZB/NZW F1 mouse model. *Clin Immunol* 2007;123(2): 219-226
- (14) Inui A, Ogasawara H, Naito T, Sekigawa I, Takasaki Y, Hayashida Y, et al. Estrogen receptor expression by peripheral blood mononuclear cells of patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 2007;26(10): 1675-1678
- (15) Holroyd CR, Edwards CJ. The effects of hormone replacement therapy on autoimmune disease: rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Climacteric* 2009;12(5): 378-386
- (16) Kim, WU, Min SY, Hwang SH, Yoo SA, Kim KJ, Cho CS. Effect of oestrogen on T cell apoptosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 2010;161(3): 453-458
- (17) Lin HL, Yen JH, Chiou SS, Tsai WC, Ou TT, Wu CC et al. Estradiol upregulates calcineurin expression via overexpression of estrogen receptor alpha gene in systemic lupus erythematosus. *Kaohsiung J Med Sci* 2011;27(4): 125-131
- (18) Walters E, Rider V, Abdou N, Greenwell C, Svojanovsky S, Smith P, et al. Estradiol targets T cell signaling pathways in human systemic lupus. *Clin Immunol* 2009;133(3): 428-436

- (19) Weckerle CE, Niewold TB. The unexplained female predominance of systemic lupus erythematosus: clues from genetic and cytokine studies. *Clin Rev Allergy Immunol* 2011;40(1): 42-49
- (20) Zen M, Ghirardello A, Iaccarino L, Tonon M, Campana C, Arienti S, et al. Hormones, immune response, and pregnancy in healthy women and SLE patients. *Swiss Med Wkly* 2010;140(13-14): 187-201
- (21) Jiang B, Sun L, Hao S, Li X, Hou Y. Estrogen distinctively modulates spleen DC from (NZB x NZW) F1 female mice in various disease development stages. *Cell Immunol* 2007;248(2): 95-102
- (22) Panchanathan R, Shen H, Bupp MG, Gould KA, Choubey D. Female and male sex hormones differentially regulate expression of Ifi202, an interferon-inducible lupus susceptibility gene within the Nba2 interval. *J Immunol* 2009;183(11): 7031-7038
- (23) Zhang Y, Saha S, Rosenfeld G, González J, Pepeljugoski KP, Peeva E. Raloxifene modulates estrogen-mediated B cell autoreactivity in NZB/W F1 mice. *J Rheumatol* 2010;37(8): 1646-1657
- (24) Khan WA, Uddin M, Khan MW, Chabbra HS. Catecholestrogens: possible role in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2009;48(11): 1345-1351
- (25) Khan WA, Habib S, Alam K, Moinuddin. Enhanced binding of circulating SLE autoantibodies to catecholestrogen-copper-modified DNA. *Mol Cell Biochem* 2008;315(1-2): 143-150
- (26) Bernier MO, Mikaeloff Y, Hudson M, Suissa S. Combined oral contraceptive use and the risk of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2009;61(4): 476-481

- (27) Tincani A, Nuzzo M, Lojcono A, Cattalini M, Meini A. Contraception in adolescents with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2007;16(8): 600-605
- (28) Fortes C. Lupus erythematosus. Are residential insecticides exposure the missing link? *Med Hypotheses* 2010;75(6): 590-593
- (29) Li J, McMurray RW. Effects of chronic exposure to DDT and TCDD on disease activity in murine systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2009;18(11): 941-949
- (30) Hughes GC, Martin D, Zhang K, Hudkins KL, Alpers CE, Clark EA, et al. Decrease in glomerulonephritis and Th1-associated autoantibody production after progesterone treatment in NZB/NZW mice. *Arthritis Rheum* 2009;60(6): 1775-1784
- (31) Gordon C, Wallace DJ, Shinada S, Kalunian KC, Forbess L, Braunstein GD, et al. Testosterone patches in the management of patients with mild/moderate systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2008;47(3): 334-338
- (32) Hazeldine JW, Arlt W, Lord JM. (2010). Dehydroepiandrosterone as a regulator of immune cell function. *J Steroid Biochem Mol Biol* 120(2-3): 2010;127-136
- (33) Sawalha AH, Kovats S. Dehydroepiandrosterone in systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rep* 2008;10(4): 286-291
- (34) Marder W, Somers EC, Kaplan MJ, Anderson MR, Lewis EE, McCune WJ. Effects of prasterone (dehydroepiandrosterone) on markers of cardiovascular risk and bone turnover in premenopausal women with systemic lupus erythematosus: a pilot study. *Lupus* 2010;19(10): 1229-1236
- (35) Hartkamp A, Geenen R, Godaert G, Bijl M, Bijlsma J, Derksen R. Effects of dehydroepiandrosterone on fatigue and well-being in women with quiescent systemic lupus erythematosus: a randomised controlled trial. *Ann Rheum Dis* 2010;69(6): 1144-1147

(36) Piotrowski P, Gasik R, Lianeri M, Cieslak D, Wudarski M, Hrycaj P, et al. Asp327Asn polymorphism of sex hormone-binding globulin gene is associated with systemic lupus erythematosus incidence. *Mol Biol Rep* 2010;37(1): 235-239

## Anexo

**Tabela 1:** Critérios de diagnóstico de LES \* segundo o ACR †, modificados em 1997

1. <i>Rash</i> malar
2. <i>Rash</i> discoide
3. Fotossensibilidade
4. Úlceras orais
5. Artrite não erosiva envolvendo duas ou mais articulações periféricas
6. Serosite: pleurite ou pericardite
7. Envolvimento renal:  proteinúria persistente > 0,5g/dia ou > +++ em urina ocasional  cilindros celulares: de eritrócitos, hemoglobina, granulares, tubulares ou mistos
8. Envolvimento neurológico
9. Envolvimento hematológico:  anemia hemolítica com reticulocitose  leucopenia < 4.000/mm <sup>3</sup> em duas ou mais ocasiões  linfopenia < 1.500/mm <sup>3</sup> em duas ou mais ocasiões  trombocitopenia < 100.000/mm <sup>3</sup> na ausência de outra causa
10. Envolvimento imunológico  anticorpos antidsDNA ‡  anticorpos anti-Sm §  anticorpos antifosfolípídeos
11. Anticorpos antinucleares

\* LES - lúpus eritematoso sistêmico; † ACR - *American College of Rheumatology*; ‡ antidsDNA - anticadeia dupla de DNA; § anti-Sm - anti-Smith

(Adaptado de O'Neill S, Cervera R (1))

# Anexo

# Instruções aos Autores

Estas instruções seguem os "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" (disponível em URL: [www.icmje.org](http://www.icmje.org)).

**Os ARQUIVOS DE MEDICINA publicam investigação original nas diferentes áreas da medicina, favorecendo investigação de qualidade, particularmente a que descreva a realidade nacional.**

Os manuscritos são avaliados inicialmente por membros do corpo editorial e a publicação daqueles que forem considerados adequados fica dependente do parecer técnico de pelo menos dois revisores externos. A revisão é feita anonimamente, podendo os revisores propor, por escrito, alterações de conteúdo ou de forma ao(s) autor(es), condicionando a publicação do artigo à sua efectivação.

Todos os artigos solicitados serão submetidos a avaliação externa e seguirão o mesmo processo editorial dos artigos de investigação original.

Apesar dos editores e dos revisores desenvolverem os esforços necessários para assegurar a qualidade técnica e científica dos manuscritos publicados, a responsabilidade final do conteúdo das publicações é dos autores.

Todos os artigos publicados passam a ser propriedade dos ARQUIVOS DE MEDICINA. Uma vez aceites, os manuscritos não podem ser publicados numa forma semelhante noutros locais, em nenhuma língua, sem o consentimento dos ARQUIVOS DE MEDICINA.

Apenas serão avaliados manuscritos contendo material original que não estejam ainda publicados, na íntegra ou em parte (incluindo tabelas e figuras), e que não estejam a ser submetidos para publicação noutros locais. Esta restrição não se aplica a notas de imprensa ou a resumos publicados no âmbito de reuniões científicas. Quando existem publicações semelhantes à que é submetida ou quando existirem dúvidas relativamente ao cumprimento dos critérios acima mencionados estas devem ser anexadas ao manuscrito em submissão.

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores têm que assegurar todas as autorizações necessárias para a publicação do material submetido.

De acordo com uma avaliação efectuada sobre o material apresentado à revista os editores dos ARQUIVOS DE MEDICINA prevêm publicar aproximadamente 30% dos manuscritos submetidos, sendo que cerca de 25% serão provavelmente rejeitados pelos editores no primeiro mês após a recepção sem avaliação externa.

## TIPOLOGIA DOS ARTIGOS PUBLICADOS NOS ARQUIVOS DE MEDICINA

### Artigos de investigação original

Resultados de investigação original, qualitativa ou quantitativa.

O texto deve ser limitado a 2000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 4 tabelas e/ou figuras (total) e até 15 referências.

Todos os artigos de investigação original devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

### Publicações breves

Resultados preliminares ou achados novos podem ser objecto de publicações breves.

O texto deve ser limitado a 1000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

As publicações breves devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

### Artigos de revisão

Artigos de revisão sobre temas das diferentes áreas da medicina e dirigidos aos profissionais de saúde, particularmente com impacto na sua prática.

Os ARQUIVOS DE MEDICINA publicam essencialmente artigos de revisão solicitados pelos editores. Contudo, também serão avaliados artigos de revisão submetidos sem solicitação prévia, preferencialmente revisões quantitativas (Meta-análise).

O texto deve ser limitado a 5000 palavras, excluindo referências e tabelas, e apresentar um máximo de 5 tabelas e/ou figuras (total). As revisões quantitativas devem ser organizadas em introdução, métodos, resultados e discussão.

As revisões devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada, devendo ser estruturados no caso das revisões quantitativas.

### Comentários

Comentários, ensaios, análises críticas ou declarações de posição acerca de tópicos de interesse na área da saúde, designadamente políticas de saúde e educação médica.

O texto deve ser limitado a 900 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura e até 5 referências.

Os comentários não devem apresentar resumos.

### Casos clínicos

Os ARQUIVOS DE MEDICINA transcrevem casos publicamente apresentados trimestralmente pelos médicos do Hospital de S. João numa selecção acordada com o corpo editorial da revista. No entanto é bem vinda a descrição de casos clínicos verdadeiramente exemplares, profundamente estudados e discutidos. O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

Os casos clínicos devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 120 palavras cada.

### Séries de casos

Descrições de séries de casos, tanto numa perspectiva de tratamento estatístico como de reflexão sobre uma experiência particular de diagnóstico, tratamento ou prognóstico.

O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

As séries de casos devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

### Cartas ao editor

Comentários sucintos a artigos publicados nos ARQUIVOS DE MEDICINA ou relatando de forma muito objectiva os resultados de observação clínica ou investigação original que não justifiquem um tratamento mais elaborado.

O texto deve ser limitado a 400 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura e até 5 referências.

As cartas ao editor não devem apresentar resumos.

### Revisões de livros ou software

Revisões críticas de livros, software ou sítios da internet.

O texto deve ser limitado a 600 palavras, sem tabelas nem figuras, com um máximo de 3 referências, incluindo a do objecto da revisão.

As revisões de livros ou software não devem apresentar resumos.

## FORMATAÇÃO DOS MANUSCRITOS

A formatação dos artigos submetidos para publicação nos ARQUIVOS DE MEDICINA deve seguir os "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals".

Todo o manuscrito, incluindo referências, tabelas e legendas de figuras, deve ser redigido a dois espaços, com letra a 11 pontos, e justificado à esquerda.

Aconselha-se a utilização das letras Times, Times New Roman, Courier, Helvetica, Arial, e Symbol para caracteres especiais.

Devem ser numeradas todas as páginas, incluindo a página do título.

Devem ser apresentadas margens com 2,5 cm em todo o manuscrito. Devem ser inseridas quebras de página entre cada secção.

Não devem ser inseridos cabeçalhos nem rodapés.

Deve ser evitada a utilização não técnica de termos estatísticos como aleatório, normal, significativo, correlação e amostra.

Apenas será efectuada a reprodução de citações, tabelas ou ilustrações de fontes sujeitas a direitos de autor com citação completa da fonte e com autorizações do detentor dos direitos de autor.

### Unidades de medida

Devem ser utilizadas as unidades de medida do Sistema Internacional (SI), mas os editores podem solicitar a apresentação de outras unidades não pertencentes ao SI.

### Abreviaturas

Devem ser evitados acrónimos e abreviaturas, especialmente no título e nos resumos. Quando for necessária a sua utilização devem ser definidos na primeira vez que são mencionados no texto e também nos resumos e em cada tabela e figura, excepto no caso das unidades de medida.

### Nomes de medicamentos

Deve ser utilizada a Designação Comum Internacional (DCI) de fármacos em vez de nomes comerciais de medicamentos. Quando forem utilizadas marcas registadas na investigação, pode ser mencionado o nome do medicamento e o nome do laboratório entre parêntesis.

### Página do título

Na primeira página do manuscrito deve constar:

- 1) o título (conciso e descritivo);
- 2) um título abreviado (com um máximo de 40 caracteres, incluindo espaços);
- 3) os nomes dos autores, incluindo o primeiro nome (não incluir graus académicos ou títulos honoríficos);
- 4) a filiação institucional de cada autor no momento em que o trabalho foi realizado;
- 5) o nome e contactos do autor que deverá receber a correspondência, incluindo endereço, telefone, fax e e-mail;
- 6) os agradecimentos, incluindo fontes de financiamento, bolsas de estudo e colaboradores que não cumpram critérios para autoria;
- 7) contagens de palavras separadamente para cada um dos resumos e para o texto principal (não incluindo referências, tabelas ou figuras).

### Autoria

Como referido nos "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals", a autoria requer uma contribuição substancial para:

- 1) concepção e desenho do estudo, ou obtenção dos dados, ou análise e interpretação dos dados;
- 2) redacção do manuscrito ou revisão crítica do seu conteúdo intelectual;
- 3) aprovação final da versão submetida para publicação.

A obtenção de financiamento, a recolha de dados ou a supervisão geral do grupo de trabalho, por si só, não justificam autoria.

É necessário especificar na carta de apresentação o contributo de cada autor para o trabalho. Esta informação será publicada.

Exemplo: José Silva concebeu o estudo e supervisionou todos os aspectos da sua implementação. António Silva colaborou na concepção do estudo e efectuou a análise dos dados. Manuel Silva efectuou a recolha de dados e colaborou na sua análise. Todos os autores contribuíram para a interpretação dos resultados e revisão dos rascunhos do manuscrito.

Nos manuscritos assinados por mais de 6 autores (3 autores no caso das cartas ao editor), tem que ser explicitada a razão de uma autoria tão alargada.

É necessária a aprovação de todos os autores, por escrito, de quaisquer modificações da autoria do artigo após a sua submissão.

### Agradecimentos

Devem ser mencionados na secção de agradecimentos os colaboradores que contribuíram substancialmente para o trabalho mas que não cumpram os critérios para autoria, especificando o seu contributo, bem como as fontes de financiamento, incluindo bolsas de estudo.

### Resumos

Os resumos de artigos de investigação original, publicações breves, revisões quantitativas e séries de casos devem ser estruturados (introdução, métodos, resultados e conclusões) e apresentar conteúdo semelhante ao do manuscrito.

Os resumos de manuscritos não estruturados (revisões não quantitativas e casos clínicos) também não devem ser estruturados.

Nos resumos não devem ser utilizadas referências e as abreviaturas devem ser limitadas ao mínimo.

### Palavras-chave

Devem ser indicadas até seis palavras-chave, em português e em inglês, nas páginas dos resumos, preferencialmente em concordância com o Medical Subject Headings (MeSH) utilizado no Index Medicus. Nos manuscritos que não apresentam resumos as palavras-chave devem ser apresentadas no final do manuscrito.

### Introdução

Deve mencionar os objectivos do trabalho e a justificação para a sua realização.

Nesta secção apenas devem ser efectuadas as referências indispensáveis para justificar os objectivos do estudo.

### Métodos

Nesta secção devem descrever-se:

- 1) a amostra em estudo;
- 2) a localização do estudo no tempo e no espaço;
- 3) os métodos de recolha de dados;
- 4) análise dos dados.

As considerações éticas devem ser efectuadas no final desta secção.

### Análise dos dados

Os métodos estatísticos devem ser descritos com o detalhe suficiente para que possa ser possível reproduzir os resultados apresentados.

Sempre que possível deve ser quantificada a imprecisão das estimativas apresentadas, designadamente através da apresentação de intervalos de confiança. Deve evitar-se uma utilização excessiva de testes de hipóteses, com o uso de valores de p, que não fornecem informação quantitativa importante.

Deve ser mencionado o software utilizado na análise dos dados.

### Considerações éticas e consentimento informado

Os autores devem assegurar que todas as investigações envolvendo seres humanos foram aprovadas por comissões de ética das instituições em que a investigação tenha sido desenvolvida, de acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial ([www.wma.net](http://www.wma.net)).

Na secção de métodos do manuscrito deve ser mencionada esta aprovação e a obtenção de consentimento informado, quando aplicável.

### Resultados

Os resultados devem ser apresentados, no texto, tabelas e figuras, seguindo uma sequência lógica.

Não deve ser fornecida informação em duplicado no texto e nas tabelas ou figuras, bastando descrever as principais observações referidas nas tabelas ou figuras.

Independentemente da limitação do número de figuras propostos para cada tipo de artigo, só devem ser apresentados gráficos quando da sua utilização resultarem claros benefícios para a compreensão dos resultados.

### Apresentação de dados numéricos

A precisão numérica utilizada na apresentação dos resultados não deve ser superior à permitida pelos instrumentos de avaliação.

Para variáveis quantitativas as medidas apresentadas não deverão ter mais do que uma casa decimal do que os dados brutos.

As proporções devem ser apresentadas com apenas uma casa decimal e no caso de amostras pequenas não devem ser apresentadas casas decimais.

Os valores de estatísticas teste, como t ou  $\chi^2$ , e os coeficientes de correlação devem ser apresentados com um máximo de duas casas decimais.

Os valores de p devem ser apresentados com um ou dois algarismos significativos e nunca na forma de p=NS, p<0,05 ou p>0,05, na medida em que a informação contida no valor de P pode ser importante. Nos casos em



que o valor de  $p$  é muito pequeno (inferior a 0,0001), pode apresentar-se como  $p < 0,0001$ .

### Tabelas e figuras

As tabelas devem surgir após as referências. As figuras devem surgir após as tabelas.

Devem ser mencionadas no texto todas as tabelas e figuras, numeradas (numeração árabe separadamente para tabelas e figuras) de acordo com a ordem em que são discutidas no texto.

Cada tabela ou figura deve ser acompanhada de um título e notas explicativas (ex. definições de abreviaturas) de modo a serem compreendidas e interpretadas sem recurso ao texto do manuscrito.

Para as notas explicativas das tabelas ou figuras devem ser utilizados os seguintes símbolos, nesta mesma sequência:

\*, †, ‡, §, ||, ¶, \*\*, ††, ‡‡.

Cada tabela ou figura deve ser apresentada em páginas separadas, juntamente com o título e as notas explicativas.

Nas tabelas devem ser utilizadas apenas linhas horizontais.

As figuras, incluindo gráficos, mapas, ilustrações, fotografias ou outros materiais devem ser criadas em computador ou produzidas profissionalmente.

As figuras devem incluir legendas.

Os símbolos, setas ou letras devem contrastar com o fundo de fotografias ou ilustrações.

A dimensão das figuras é habitualmente reduzida à largura de uma coluna, pelo que as figuras e o texto que as acompanha devem ser facilmente legíveis após redução.

Na primeira submissão do manuscrito não devem ser enviados originais de fotografias, ilustrações ou outros materiais como películas de raios-X. As figuras, criadas em computador ou convertidas em formato electrónico após digitalização devem ser inseridas no ficheiro do manuscrito.

Uma vez que a impressão final será a preto e branco ou em tons de cinzento, os gráficos não deverão ter cores. Gráficos a três dimensões apenas serão aceites em situações excepcionais.

A resolução de imagens a preto e branco deve ser de pelo menos 1200 dpi e a de imagens com tons de cinzento ou a cores deve ser de pelo menos 300 dpi.

As legendas, símbolos, setas ou letras devem ser inseridas no ficheiro da imagem das fotografias ou ilustrações.

Os custos da publicação das figuras a cores serão suportados pelos autores.

Em caso de aceitação do manuscrito, serão solicitadas as figuras nos formatos mais adequados para a produção da revista.

### Discussão

Na discussão não deve ser repetida detalhadamente a informação fornecida na secção dos resultados, mas devem ser discutidas as limitações do estudo, a relação dos resultados obtidos com o observado noutras investigações e devem ser evidenciados os aspectos inovadores do estudo e as conclusões que deles resultam.

É importante que as conclusões estejam de acordo com os objectivos do estudo, mas devem ser evitadas afirmações e conclusões que não sejam completamente apoiadas pelos resultados da investigação em causa.

### Referências

As referências devem ser listadas após o texto principal, numeradas consecutivamente de acordo com a ordem da sua citação. Os números das referências devem ser apresentados entre parentesis. Não deve ser utilizado software para numeração automática das referências.

Pode ser encontrada nos "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" uma descrição pormenorizada do formato dos diferentes tipos de referências, de que se acrescentam alguns exemplos:

#### 1. Artigo

• Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increase risk for pancreaticobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.

#### 2. Artigo com Organização como Autor

• The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 64:282-4.

#### 3. Artigo publicado em Volume com Suplemento

• Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1:275-82.

#### 4. Artigo publicado em Número com Suplemento

payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996;23 (1 Suppl 2):89-97.

#### 5. Livro

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers;1996.

#### 6. Livro (Editor(s) como Autor(es))

Norman IJ, Redfern SJ, editores. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone;1996.

#### 7. Livro (Organização como Autor e Editor)

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute;1992.

#### 8. Capítulo de Livro

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press;1995. p. 465-78.

#### 9. Artigo em Formato Electrónico

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1 (1): [24 screens]. Disponível em: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Devem ser utilizados os nomes abreviados das publicações, de acordo com o adoptado pelo Index Medicus. Uma lista de publicações pode ser obtida em <http://www.nlm.nih.gov>.

Deve ser evitada a citação de resumos e comunicações pessoais.

Os autores devem verificar se todas as referências estão de acordo com os documentos originais.

### Anexos

Material muito extenso para a publicação com o manuscrito, designadamente tabelas muito extensas ou instrumentos de recolha de dados, poderá ser solicitado aos autores para que seja fornecido a pedido dos interessados.

### Conflitos de interesse

Os autores de qualquer manuscrito submetido devem revelar no momento da submissão a existência de conflitos de interesse ou declarar a sua inexistência.

Essa informação será mantida confidencial durante a revisão do manuscrito pelos avaliadores externos e não influenciará a decisão editorial mas será publicada se o artigo for aceite.

### Autorizações

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores devem ter em sua posse os seguintes documentos que poderão ser solicitados pelo corpo editorial:

- consentimento informado de cada participante;
- consentimento informado de cada indivíduo presente em fotografias, mesmo quando forem efectuadas tentativas de ocultar a respectiva identidade;
- transferência de direitos de autor de imagens ou ilustrações;
- autorizações para utilização de material previamente publicado;
- autorizações dos colaboradores mencionados na secção de agradecimentos.

### SUBMISSÃO DE MANUSCRITOS

Os manuscritos submetidos aos ARQUIVOS DE MEDICINA devem ser preparados de acordo com as recomendações acima indicadas e devem ser acompanhados de uma carta de apresentação.

**Carta de apresentação**

Deve incluir a seguinte informação:

- 1) Título completo do manuscrito;
- 2) Nomes dos autores com especificação do contributo de cada um para o manuscrito;
- 3) Justificação de um número elevado de autores, quando aplicável;
- 4) Tipo de artigo, de acordo com a classificação dos ARQUIVOS DE MEDICINA;
- 5) Fontes de financiamento, incluindo bolsas;
- 6) Revelação de conflitos de interesse ou declaração da sua ausência;
- 7) Declaração de que o manuscrito não foi ainda publicado, na íntegra ou em parte, e que nenhuma versão do manuscrito está a ser avaliada por outra revista;
- 8) Declaração de que todos os autores aprovaram a versão do manuscrito que está a ser submetida;
- 9) Assinatura de todos os autores.

É dada preferência à submissão dos manuscritos por e-mail (submit@arquivosdemedicina.org).

O manuscrito e a carta de apresentação devem, neste caso, ser enviados em ficheiros separados em formato word. Deve ser enviada por fax (225074374) uma cópia da carta de apresentação assinada por todos os autores.

Se não for possível efectuar a submissão por e-mail esta pode ser efectuada por correio para o seguinte endereço:

ARQUIVOS DE MEDICINA  
Faculdade de Medicina do Porto  
Alameda Prof. Hernâni Monteiro  
4200 – 319 Porto, Portugal

Os manuscritos devem, então, ser submetidos em triplicado (1 original impresso apenas numa das páginas e 2 cópias com impressão frente e verso), acompanhados da carta de apresentação.

Os manuscritos rejeitados ou o material que os acompanha não serão devolvidos, excepto quando expressamente solicitado no momento da submissão.

**CORRECÇÃO DOS MANUSCRITOS**

A aceitação dos manuscritos relativamente aos quais forem solicitadas alterações fica condicionada à sua realização.

A versão corrigida do manuscrito deve ser enviada com as alterações sublinhadas para facilitar a sua verificação e deve ser acompanhada duma carta respondendo a cada um dos comentários efectuados.

Os manuscritos só poderão ser considerados aceites após confirmação das alterações solicitadas.

**MANUSCRITOS ACEITES**

Uma vez comunicada a aceitação dos manuscritos, deve ser enviada a sua versão final em ficheiro de Word®, formatada de acordo com as instruções acima indicadas.

No momento da aceitação os autores serão informados acerca do formato em que devem ser enviadas as figuras.

A revisão das provas deve ser efectuada e aprovada por todos os autores dentro de três dias úteis. Nesta fase apenas se aceitam modificações que decorram da correcção de gralhas.

Deve ser enviada uma declaração de transferência de direitos de autor para os ARQUIVOS DE MEDICINA, assinada por todos os autores, juntamente com as provas corrigidas.